

РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА РЕКОМБІНАНТНОГО МОДИФІКОВАНОГО ГЛЮКАГОНОПОДІБНОГО ПЕПТИДУ 1 ЛЮДИНИ

В.С. КУКОВСЬКА^{1*}, О.М. ОГУРЦОВ²

¹ магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ»,
Харків, УКРАЇНА

² завідувач кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, д-р. фіз.-мат. наук,
проф., НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА

*email: vkukovska@gmail.com

Цукровий діабет(ЦД) являє собою серйозну медико-соціальну проблему, що обумовлено його високою поширеністю, що підкріплюється тенденцією до зростання числа хворих, хронічним перебігом, що визначає кумулятивний характер захворювання, високою інвалідизацією хворих і необхідністю створення системи спеціалізованої допомоги. В даний час в усьому світі налічується 250 млн хворих на цукровий діабет, а за прогнозом експертів ВООЗ вже в 2025 році число осіб, як і страждають на це захворювання, складе близько 380 млн чоловік [1].

Сьогодні для лікування ЦД в клінічну практику увійшли інноваційні цукрознижувальні препарати-інкретини, засновані на механізмі дії гормонів шлунково-кишкового тракту. Відомо, що не усі пацієнти можуть використовувати інсулін для терапії ЦД. Це пояснюється тим, що в підтримці обміну речовин і імунітету в організмі, крім інсуліну, бере участь і ряд інших гормонів і гормоноподібних сполук. Одним з таких найбільш вивчених в даний час гормоном-інкретином є глюкагоноподібний пептид 1(ГПП-1) [2].

Природний ГПП-1 являє собою пептид, який в організмі людини присутній в трьох формах: ГПП-1 (1-37); ГПП-1 (7-37); ГПП-1 (7-36)NH₂. Інкретиновою активністю в однаковій мірі володіють лише форми два і три відповідно. Однак, використання нативних форм ГПП-1 є неефективним у зв'язку з їх дуже низькою стабільністю в кровотоці(період напіврозпаду одна-дві хвилини). У зв'язку з цим на практиці замість нативних форм ГПП-1 застосовують їх аналоги, які мають одночасно схожу дію і високу протеолітичну стабільність [3].

З метою розробки ефективної технології отримання аналогів ГПП-1 було досліджено існуючі біотехнології одержання рекомбінантних форм ГПП-1. Серед них була виділена технологія отримання поліпептиду на основі ГПП-1 з використанням рекомбінантного штаму-продуцента *E. coli* ECRGlp20, який трансформовано плазмідом рЕТ28-Glp20, що є похідною вектора рЕТ28b+ [Novagen] і містить структурний ген злитого білка пре-рмГПП-1 під контролем сильного промотора, впізнаваного РНК полімеразою фага Т7 *E.coli* [3].

Основні переваги рекомбінантних аналогів ГПП-1 [3]:

1. Мутантні похідні ГПП-1 мають велику стійкість до дії ДПП-4;

2. Отримання похідних ГПП-1, злитих з довгоживучими білками крові.

Основний технологічний процес виробництва рмГПП-1 включає наступні стадії [8]:

1. Отримання посівної культури штаму-продуцента *E. coli* ECRGlp20 та культивування у пробірках для нарощування біомаси;

2. Промислове культивування штаму-продуцента у біореакторі;

3. Відділення клітинної маси;

4. Дезінтеграція біомаси та виділення клітинного лізату;

5. Екстракція, ренатурація та процесінг поліпептиду;

6. Відділення поліпептиду від домішок;

7. Концентрування та очищення рМ ГПП-1;

8. Кінцева стерилізація отриманого полупродукту;

9. Розлив;

10. Контроль;

11. Розфасовка;

12. Зберігання до реалізації.

Обрана біотехнологія відрізняється тим, що цільовий поліпептид синтезується в нерозчинній фракції в клітинах штаму-продуцента *E.coli*. Це забезпечує його значний рівень біосинтезу і дозволяє спростити подальші стадії (денатурації-ренатурації, автокаталитический процесінг злитого білка і отримання очищеного рмГПП-1) за рахунок їх проведення за низької температури [3].

На підставі цього можна зробити висновок, що обрана біотехнологія одержання рекомбінантного модифікованого глюкагоноподібного пептиду 1 людини може забезпечити високий вихід кінцевого продукту та позитивно впливати на хворих при терапії цукрового діабету 2 типу.

Список літератури:

1. Аметов А. С. Роль β -кліток в регуляції гомеостазу глюкози в нормі і при сахарному діабеті 2 типу / А. С. Аметов // ФЛП «Заславський Александр Юрьевич» – 2008. – №4. – С. 6–11.

2. Орленко В. Л. Лікування аналогами глюкагоноподібного пептиду-1 — прорив в терапії сахарного діабету 2-го типу / В. Л. Орленко, К. П. Зак // ФЛП «Заславський Александр Юрьевич» – 2014. – №4. – С. 112–117.

3. Пат. 2642260 Російська Федерація, МПК C07 K 14/60 C12N 1/21 C12P 21/02 C12R 1/19. Поліпептид для зниження рівня цукру в крові на основі глюкагоноподібного пептиду-1 людини, рекомбінантний штам-продуцент *E. coli* і спосіб отримання цього поліпептиду / Козлов Д. Г.; Федеральне державне бюджетне установа "Державний науково-дослідницький інститут генетики і селекції промислових мікроорганізмів Національного дослідницького центру "Курчатовський інститут" (НИЦ "Курчатовський інститут" - ГосНИИгенетика). – № 2016141433; заявл. 21.10.2016; опубл. 24.01.2018, Бюл. №3.